بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران (*Crocus Spp.*)

منصور افشارمحمدیان*، شیرین کردی و احمد مشهدی نژاد

رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه،گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت:۹۵/۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۵

چکیده

با توجه به نگرانیهای عمومی در خصوص عوارض نگهدارنده‌های شیمیایی، تمایل به مصرف محصولات فاقد مواد نگهدارنده و یا دارای نگهدارنده‌های طبیعی افزایش یافته است. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران بر روی دو نوع باکتری گرم‌مثبت (*Bacillus subtilis* , *Staphylococcus aureus*) و دو باکتری گرم‌منفی (*Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli*) که از مهم‌ترین باکتریهای ایجادکننده عفونت و مسمومیت غذایی هستند، انجام شد. در این بررسی فعالیت ضد باکتریایی سه گونه زعفران با نام علمی *Crocus sativus*, *Crocus speciosus*, *caspius* *Crocus* مورد بررسی قرار گرفت. عصاره گیری از این سه گونه زعفران توسط حلال متانل اسیدی انجام شد و میزان فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های حاصل از طریق سنجش قطر هاله عدم رشد باکتری به روش میزان نفوذ چاهک و تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد مشخص شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران، دارای اثرات ضد باکتریایی متفاوتی هستند، به‌نحوی‌که *B.subtilis* حساس‌ترین باکتری و *E.coli* مقاوم‌ترین باکتری به عصاره‌ها بود. همچنین عصاره گلبرگ گونه *C.sativus* و عصاره کلاله گونه *C. speciosus* اثر مهاری بیشتری روی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشت. میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌ها برای باکتریهای *E.coli*، *B.subtilis*، *P.aeruginosa*، *S.aureus* به ترتیب برابر با ۱۱، ۲۲، ۱۶، ۱۹ میلی متر می باشد. همچنین حداقل غلظت بازدارنده رشد برای عصاره گونه *C.caspius* بود که در غلظت mg/ml ۳۱/۱۰ به دست آمد. بنابراین، از کلاله و گلبرگ زعفران، علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی، به‌عنوان یک ماده ضد باکتریایی نیز می‌توان استفاده کرد.

واژه های کلیدی: زعفران، گلبرگ، کلاله، فعالیت ضدباکتریایی، حداقل غلظت بازدارنده

* نویسنده مسئول، تلفن: ۵۲۳۹-۳۳۳-۰۹۱۱ ، پست الکترونیکی: afshar@guilan.ac.ir

مقدمه

علم شناسایی و استفاده از گیاهان دارویی به قدمت عمر انسان برمی‌گردد. تا قبل از قرن ۱۹ میلادی استفاده از منابع طبیعی و عمدتاً گیاهان، از راههای اصلی درمان بیماریها بوده است، اما پیشرفت سریع علم شیمی و کمبود منابع طبیعی باعث شد که ترکیبات شیمیایی جدید جایگزین داروهای گیاهی شوند (۱۹). برخی از گیاهان دارویی به‌عنوان مواد نگهدارنده یا مواد ضد فساد، طعم دهنده مواد غذایی، ادویه و چاشنیهای غذایی می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (۷). استفاده از عصاره‌ها و ترکیبات گیاهان معطر به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در صنایع غذایی نیز در حال توسعه است. ترکیبات آنتی‌اکسیدان علاوه بر جلوگیری از فساد مواد غذایی، اثرات مفیدی نیز بر عملکرد بدن دارند (۲۲). بیماریهای حاصل از مصرف غذاهای آلوده به باکتریهای بیماریزا از اهمیت فراوانی در بهداشت عمومی برخوردار بوده و سالانه خسارات مالی و جانی فراوانی را به جوامع تحمیل می‌نمایند (۴). یکی از راههای کنترل رشد

باکتریهای بیماریزای مواد غذایی استفاده از نگهدارنده‌ها و ترکیبات ضد میکروبی است (۸). افزودن مواد شیمیایی به‌منظور نگهداری مواد غذایی معمولاً بر مبنای جلوگیری از رشد میکروبی و یا کشتن و از بین بردن گروههایی از میکروارگانیسم‌های مضر است. با توجه به نگرانیهای عمومی در خصوص عوارض نگهدارنده‌های شیمیایی، تمایل به مصرف محصولاتی است که فاقد نگهدارنده بوده و یا از نگهدارنده طبیعی استفاده شده است. به همین دلیل در سالهای اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده‌های طبیعی صورت گرفته است. ازجمله این نگهدارنده‌ها اسانسها و عصاره‌های گیاهی است. عصاره‌ها و اسانسهای گیاهان دارویی و اجزای تشکیل‌دهنده آنها دارای اثرات شناخته شده ضد باکتریایی می‌باشند (۵). ازجمله این گیاهان می‌توان به زعفران (*Crocus sativus* L.) اشاره نمود. کلاله خشک شده گل این گیاه به‌عنوان زعفران در صنایع غذایی (به‌عنوان ادویه معطر و برای رنگین کردن غذا) و صنعت دارویی (به‌عنوان آرام‌بخش و مسکن بیماری آسم، سیاه‌سرفه و التهاب) مورداستفاده قرار می گیرد (۱۱). زعفران گیاهی چندساله، متعلق به خانواده زنبقیان (Iridaceae) و راسته لیلیالها (Liliales) است؛ از ۱۰ گونه خودرو در ایران، چهار گونه آن به‌صورت خودرو و وحشی در استان گیلان رویش دارند که تاکنون دو گونه آن موردبررسی علمی قرارگرفته است که شامل: گونه زعفران خزری (*Crocus caspius* Fisch C. A) زعفران زیبا (*Crocus speciosus* M.B) است. این تحقیق باهدف بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران (گونه زعفران خزری، زعفران زیبا و زعفران گیلانی) علیه دو نوع باکتری گرم‌مثبت (*S.aureus* و *B.subtilis*) و دو باکتری گرم‌منفی (*P.aeruginosa* و *E.coli*) که از مهم‌ترین باکتریهای ایجادکننده عفونت و مسمومیت غذایی هستند، انجام‌شد.

مواد و روشها

مواد شیمیایی و وسایل مورد استفاده: در این بررسی از وسایل و موادی مانند اسپکتروفتومتر (CamSpec M501 Single Beam UV/Visible, china)، اتوکلاو (F2000, Taiwan)، سانتریفیوژ یخچال‌دار (Hettich, Germany)، ترازوی دیجیتال (AND-GF200) (0/001), Japan، pH متر (Eutech instruments pH 510, Australia)، محیط کشت نوترینت براث (Merck)، آگار (Merck)، دیسک استاندارد آنتی‌بیوتیک (شرکت پادتن طب، ایران) استفاده شد. همچنین حلالهای آلی استفاده‌شده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه: سویه‌های باکتریایی در این تحقیق شامل دوسویه باکتری گرم‌مثبت (*S.aureus* 6538 و *B.subtilis* ATCC 6051)، دوسویه باکتری گرم منفی (*P.aeruginosa* ATCC 9027 و *E.coli* ATCC 8739) بودند که از بانک میکروارگانیسم‌های مرکز ملی ذخایرژنتیکی و زیستی ایران تهیه و در محیط کشت نوترینت‌آگار و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد.

استخراج عصاره‌های کلاله و گلبرگ زعفران: کلاله‌ها و گلبرگهای گونه‌های مختلف زعفران وحشی موردمطالعه از ارتفاعات رستم‌آباد واقع در استان گیلان جمع‌آوری‌شد و در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. به‌منظور تهیه عصاره ۰/۵ گرم از نمونه کلاله و گلبرگ خشک‌شده هر یک از گونه ها، در هاون ساییده شد و به میکروتیوپهایی انتقال داده شد. پس‌ازآن، به هریک از میکروتیوپها، ۱۵۰۰ میکرولیتر حلال استخراج شامل متانل استیک اسید (نسبت ۸۵ به ۱۵) اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس میکروتیوپهای حاوی نمونه، در سانتریفیوژ قرارگرفته و مدت ده دقیقه با سرعت (rpm) ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. محلول رو شناور که حاوی عصاره گیاه بود، با دقت توسط سمپلر جدا شده و به میکروتیوپهایی با ذکر مشخصات انتقال داده شدند.

میکروتیوپها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریزر، برای استفاده در مراحل بعدی آزمایش قرارداده شدند (۳).

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های کلاله و گلبرگ زعفران: ۱- روش انتشار چاهک: فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران در برابر گونه‌های بیماریزا از طریق سنجش هاله عدم رشد و به روش نفوذچاهک موردبررسی قرارگرفت. در این روش پس از آماده‌کردن سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل نیم مک‌فارلند که معادل با $5/1\times10^{8}$ CFU/ml است، با استفاده از سوآب استریل بر سطح محیط‌کشت مولرهینتون-آگار، کشت یکنواختی از باکتریها انجام گرفت. سپس چاهکهایی به قطر ۶ میلی‌متر با استفاده از انتهای پیپت پاستور استریل در سطح محیط‌کشت ایجادشد و کف چاهکها با استفاده از ۲۰ میکرولیتر محیط کشت ذوب‌شده پوشانده شده و پلیتها به مدت ۱۵ دقیقه در یخچال قرار-گرفتند. سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های مختلف تهیه‌شده در چاهکها ریخته شده و پلیتها به انکوباتور انتقالافته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری شدند. پس‌ازاین مدت با اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم رشد، میزان حساسیت یا مقاومت باکتریها نسبت به عصاره‌های مختلف موردسنجش قرار گرفت. به‌منظور کنترل مثبت نتایج آزمون حساسیت ضد باکتریایی، از آنتی‌بیوتیک تجاری کلرامفنیکل و به‌منظور کنترل منفی از حلال استخراج در این پژوهش استفاده شد (۶).

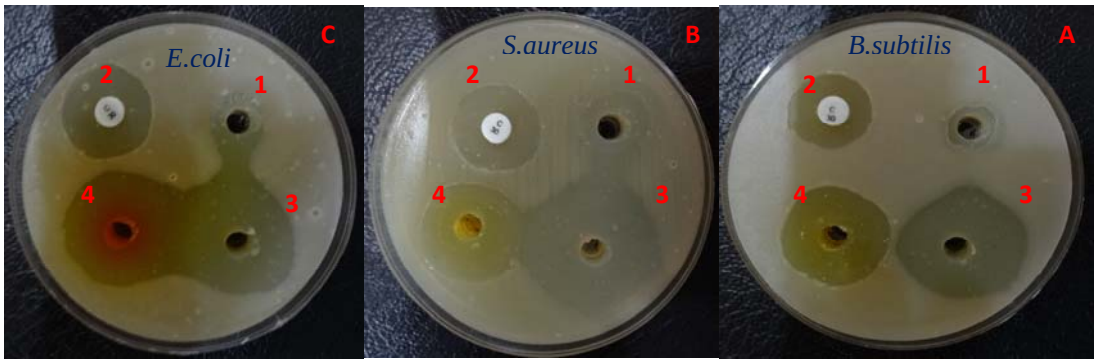
۲- روش رقت سازی: تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)عصاره‌های حاصل به روش میکرودایلوشن با استفاده از پلیتهای ۹۶ خانه انجام گرفت. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون براث در چاهکها ریخته شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت اولیه مورد نظر به چاهکهای ردیف یک اضافه و پس از مخلوط کردن عصاره با محیط کشت ۱۰۰ میکرولیتر از محلول برداشته و به ردیف دوم اضافه گردید و به‌همین ترتیب تا ردیف دهم عصاره‌ها رقیق شد. از ردیف دهم ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و بیرون ریخته شد. آنگاه از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده معادل نیم مک‌فارلند که صد برابر رقیق شده، به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به همه ردیفها اضافه گردید. ردیف شماره یازده حاوی محیط‌کشت و سوسپانسیون باکتری بود که به‌عنوان کنترل مثبت و ردیف شماره دوازده حاوی محیط‌کشت بدون باکتری و عصاره بود که به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته-شد. سپس پلیت را در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری کرده و برای تعیین MIC میزان کدورت چاهکها را که بیانگر مقدار رشد باکتری است، خوانده شد که برابر است با حداقل غلظت از ماده ضدمیکروبی که در آن رشد قابل‌رؤیتی مشاهده‌نشد.

۳- آنالیز آماری: به‌منظور مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره‌های کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران علیه میکروارگانیسم‌های موردبررسی، آزمایشها در سه تکرار انجام شد و از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و Tukey برای بررسی اختلاف بین میانگینها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

تعیین حساسیت باکتریهای موردمطالعه به عصاره‌های کلاله و گلبرگ زعفران: در این مطالعه فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران با مشاهده و اندازه‌گیری هاله محدودیت رشد در اطراف چاهکهای حاوی عصاره و تفاضل قطر آنها با هاله عدم رشد مربوط به حلال مورد استفاده برای تمامی میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش بررسی شد. نتایج به‌دست‌آمده (شکل ۱) نشان‌داد، که عصاره کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران دارای اثرات ضدمیکروبی متفاوتی هستند، به‌طوری‌که عصاره کلاله گونه *C.caspius* روی باکتری *B.subtilis* ، گونه *C.speciosus* روی باکتری *S.aureus* و گونه *C.sativus* روی باکتری *E.coli* بیشترین

خاصیت ضدباکتریایی را از خود نشان‌دادند. همچنین در این بررسی باکتری *E.coli* بیشترین مقاومت را در برابر عصاره کلاله گونه‌های *C.caspius* و *C.speciosus* از خود نشان‌داد درحالی‌که باکتری *S.aureus* بیشترین مقاومت را در برابر عصاره کلاله گونه *C.sativus* داشت. در این آزمایشها از آنتی‌بیوتیک به‌عنوان کنترل مثبت استاندارد برای باکتریها استفاده شد. میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش در برابر عصاره‌های گونه‌های مختلف زعفران در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که عصاره گلبرگ گونه *C.sativus* اثر مهاری بیشتری روی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشته، همچنین براساس نتایج این تحقیق در مجموع *E.coli* بیشترین و *B.subtilis* کمترین مقاومت را در برابر عصاره گونه های مختلف زعفران از خود نشان دادند.



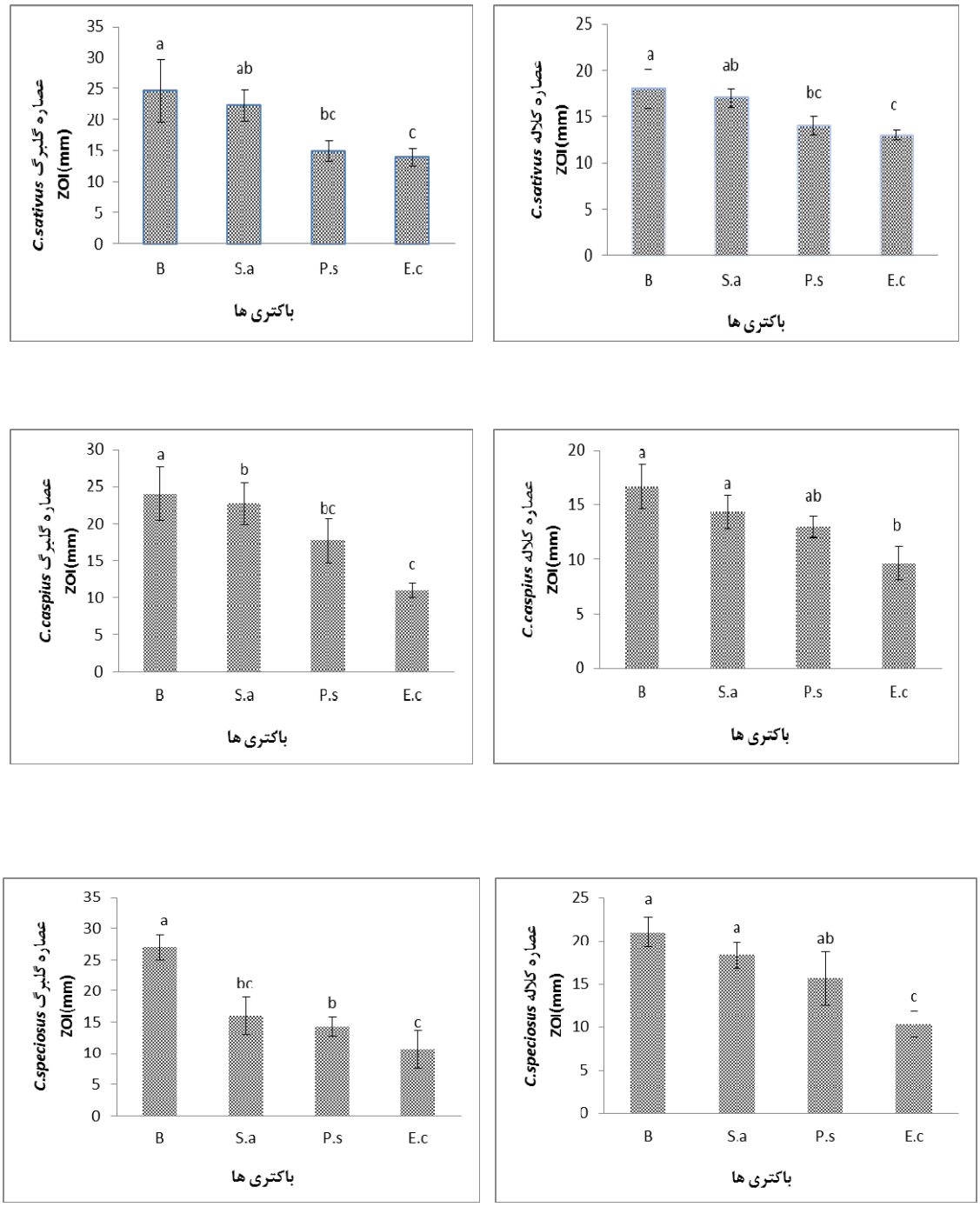
شکل ۱- سنجش اثر ضد میکروبی عصاره کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران علیه برخی باکتریهای موردمطالعه.
A: *C.caspius* /**B**: *C.speciosus* /**C**: *C.sativus* ۱: کنترل منفی/۲: کنترل مثبت/۳: عصاره کلاله/۴: عصاره گلبرگ. غلظت مورد استفاده ۱۶۵mg/ml می باشد.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش براث میکرودایلوشن: نتایج MIC عصاره کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف زعفران علیه باکتریهای موردمطالعه در شکل ۳ نشان داده شده است. عصاره گونه‌های مختلف زعفران از حداقل غلظت بازدارنده رشد متفاوتی برخوردار است، به‌طوری‌که در مورد عصاره گلبرگ زعفران تا غلظت ۱۵/۵ mg/ml عصاره، در تمام چاهکهای مربوط به تمام باکتریها، کدورت حاصل از رشد باکتری قابل‌تشخیص‌بود. کمترین مقدارMIC برای گونه *C.caspius* در غلظت ۳۱/۱۰mg/ml مربوط به باکتری *B.subtilis* بود. همچنین بیشترین مقدار MIC برای عصاره گونه *C.speciosus* در غلظت ۲۵/۴۱ mg/ml مربوط به باکتری *E.coli* بود.

عصاره کلاله گونه‌های مختلف زعفران نیز از حداقل غلظت بازدارنده رشد متفاوتی برخورداربودند، به‌طوری‌که کمترین مقدارMIC مربوط به عصاره گونه *C.sativus* بود که در غلظت۶۲/۲۰ mg/ml مربوط به باکتری *B.subtilis* بود. همچنین بیشترین مقدار MIC مربوط به عصاره گونه *C.caspius* بود که در غلظت۲۵/۴۱ mg/ml مربوط به باکتری *E.coli* بود.

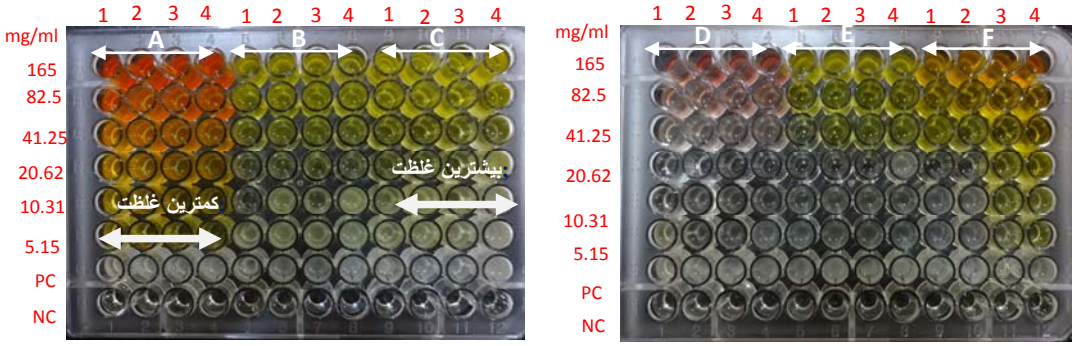
بحث

با توجه به نگرانیهایی که در مورداستفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی و مضرات آنها وجود دارد، در سالهای اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی در موادغذایی گرایش بیشتری پیدا-کرده‌اند و مطالعات مختلفی در ارتباط با اثر اسانسها و عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی پاتوژنهای مهم غذایی انجام شده است (۱، ۱۴ و ۱۸).



شکل ۲- مقایسه قدرت ضدمیکروبی عصاره گونه های مختلف زعفران علیه میکروارگانیسم‌های موردمطالعه.

داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای معیار می‌باشند. حروف انگلیسی مشابه در هر نمودار نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است و ZOI بیان‌کننده ناحیه ممانعت از رشد است. (*E.c: E.coli, P.s: P.aeruginosa, S.a: S.aureus, B: B.subtilis*). غلظت مورد استفاده ۱۶۵mg/ml می باشد.



شکل ۳- بررسی حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) عصاره‌های مختلف زعفران علیه میکروارگانیسم‌های موردمطالعه.

۱: *B.subtilis* /۲: *S.aureus* /۳: *P.aeruginosa* /۴: *E.coli* /PC: کنترل مثبت/NC: کنترل منفی

A: عصاره گلبرگ *C.sativus* /B: عصاره گلبرگ *C.caspius* /C: عصاره گلبرگ *C.speciosus*

D: عصاره کلاله *C.sativus* /E: عصاره کلاله *C.caspius* /F: عصاره کلاله *C.speciosus*

در خصوص اثرات ضد میکروبی زعفران و ترکیبات آن مطالعاتی انجام شده است، ازجمله Vahidi و همکاران ۲۰۰۲، (۲۱). اثرات ضدمیکروبی عصاره بخشهای مختلف زعفران از جمله برگها، کلاله و پرچم را علیه باکتریهای اشریشیاکلای، استافیلوکوکوس‌اورئوس، اپیدرمیس، میکروکوکوس و قارچها بررسی کردند و اثرات ضد میکروبی آنها را گزارش نمودند. نتایج بررسی آنها نشان داد که عصاره اتیل استاتی استخراج شده از بخشهای مختلف گیاه به جز برگها، دارای فعالیت ضدمیکروبی بالایی علیه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی بود (۲۱). در این تحقیق فعالیت ضدمیکروبی عصاره کلاله و گلبرگ گونه‌های مختلف وحشی زعفران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان‌داد که *B.subtilis* حساس‌ترین باکتری و *E.coli* مقاوم‌ترین باکتری به عصاره گلبرگ زعفران بودند که این یافته با نتایج حاصل از مطالعه Tayel و همکاران ۲۰۰۹، مطابقت داشت (۲۰). آنها فعالیت ضدباکتریایی زعفران بر باکتریهای بیماریزای غذایی ازجمله *B.subtilis* ، *S.aureus* ، *P.aeruginosa* و *E.coli* را به روش انتشار دیسک مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که *B.subtilis* بیشترین حساسیت را به عصاره مورد بررسی داشت. در مطالعه‌ای توسط Razzaghi و همکاران ۱۳۸۲، (۱۷) اثرات ضد میکروبی کلاله زعفران بر روی سه سویه میکروبی *E.coli*، *S.aureus* و *P.aeruginosa* مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده نشان داد که سافرانال موجود در زعفران باعث بازدارندگی رشد سویه‌های *E.coli* و *S.aureus* شده است. روش عصاره گیری و نوع حلال مورداستفاده نیز تأثیرات ضد میکروبی عصاره را تحت تأثیر قرار داده بود. تأثیر نوع حلال در عصاره گیری زعفران روی میزان خواص ضد میکروبی گیاه در تحقیق Okman و همکاران ۲۰۱۶ به‌خوبی مشهود است (۱۲). آنها فعالیت ضدباکتریایی گونه *C.sativus* را موردبررسی قراردادند و از عصاره‌های آبی، متانلی و اتانلی استفاده کردند. نتایج آنها نشان داد عصاره آبی این‌گونه بیشترین اثر را بر روی سه سویه باکتری موردبررسی داشت. دلیل این تفاوت را می‌توان به ترکیبات مختلف فعال بیولوژیک که در زعفران وجود دارند نسبت داد (۱۲). Pintado و همکاران ۲۰۱۱ (۱۶) گزارش دادند که سافرانال، کروسین و ترکیبات شیمیایی وابسته به آنها در فعالیت ضد میکروبی زعفران نقش دارند. دیگر محققین نیز به حساسیتهای متفاوت گونه‌های باکتریایی علیه مواد مختلف ضد میکروبی اشاره‌کرده‌اند. احتمالاً تفاوت حساسیت میکروارگانیسم‌های گوناگون به مواد ضد میکروبی به علت ساختار متفاوت میکروارگانیسم‌هاست. باکتری *B.subtilis* از باکتریهای گرم مثبت است که برخلاف باکتریهای گرم

منفی، فاقد غشای خارجی در دیواره خود است که این خود می‌تواند سبب‌شود که ترکیبات‌فعال در آن نفوذ بهتری داشته باشند. باکتریهای گرم منفی به علت وجود لایه چربی در لایه بیرونی نفوذناپذیرتر هستند (۱۳). در مطالعه حاضر نیز باکتریهای گرم منفی *P.aeruginosa* و *E.coli* بیشترین مقاومت را از خود نشان‌دادند که شاید یکی از علتهای آن ساختار دیواره سلولی آنها باشد. تأثیر عصاره متانلی کلاله C.*sativus* بر روی باکتریهای *S.aureus* و *E. coli* با پژوهش Parray و همکاران ۲۰۱۴ (۱۵) مطابقت داشت. در پژوهشی دیگر، Asgarpanaha و همکاران ۲۰۱۳، فعالیت ضدباکتریایی پرچم و گلبرگ گونه *C.Sativus* را علیه باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی بررسی و مشاهده کردندکه عصاره متانولی گلبرگ، فعالیت ضدمیکروبی بهتری داشته به طوری که اکثر عصاره‌ها علیه باکتریهای گرم مثبت فعالیت بهتری داشتند (۲). در این بررسی کمترین مقدارMIC مربوط به عصاره گلبرگ گونه *C.caspius* بود که در غلظت 10.31 mg/ml به دست آمد و مربوط به باکتری *Bacillus subtilis* بود. یکی از دلایل تفاوت در میزان MIC محاسبه شده در مطالعات مختلف، اختلاف ترکیب عصاره‌هاست. ترکیبات عصاره‌های حاصل از یک‌گونه گیاهی می‌تواند بر اساس جغرافیای منطقه، فصل برداشت، سن گیاه، مرحله رشد و روش خشک‌کردن و استخراج متفاوت باشد (۱۰). نتایج این بررسی نشان داد که عصاره گلبرگ گونه *C.sativus* اثر مهاری بیشتری روی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشت. Lee و همکاران ۲۰۰۷، گزارش‌دادندکه ترکیبات عصاره‌های به دست آمده از بخشهای مختلف یک گیاه خاص نیز فعالیت ضدمیکروبی متفاوتی دارد (۹). همچنین حساسیت باکتریهای مختلف نسبت به عصاره‌های مختلف متفاوت است. نتایج این مطالعه به‌طورکلی نشان‌دهنده اثر ضد میکروبی عصاره‌های کلاله و گلبرگ زعفران بر باکتریهای مورد مطالعه است، لذا امکان استفاده از این عصاره در صنایع غذایی مفید تلقی می شود. از طرفی به دلیل طعم و عطر مناسب گلبرگ زعفران، امکان استفاده از غلظتهای بالاتر نیز وجوددارد. همچنین ازآنجایی‌که گلبرگ به‌عنوان یک محصول جانبی در تولید زعفران است و در حال حاضر به‌عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود، بنابراین با عملی نمودن استفاده از این ماده در صنایع غذایی، می‌توان علاوه بر برآورده کردن خواست مصرف‌کنندگان برای نگهدارنده‌های طبیعی و افزایش عمر نگهداری مواد غذایی و بالا بردن سطح ایمنی مواد غذایی، از هدر رفتن یک محصول جانبی زعفران نیز جلوگیری نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از زحمات بی‌دریغ جناب آقای دکترحجت‌الله زمانی به استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه گیلان ابراز می‌نمایند.

منابع

1. Arques J.L., Rodriquez E., Gaya P., Medina M. and Nunez M. (2005). Effect of combinations of high pressure treatment and bacteriocin producing lactic acid bacteria on the survival of Listeria monocytogenes in raw milk cheese. International Dairy Journal, 15: 893-900.

2. Asgarpanaha J., Darabi-Mahbouba E., Mahboubib A, Mehrabb R. and Hakemivala M. (2013). Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences. 9 (4): 69- 82.

3. Bakhshi, D. and Arakawa, O. 2006. Induction of phenolic compounds biosynthesis with light irradiation in the flesh of red and yellow apples. Journal of Applied Horticulture; 8 (2) 2.

4. Brunelle S.2001. Electroimmunoassay technology for food born pathogen detection. IVD Technol. 200, 16: 13 - 34.

5. Canillac N, Mourey A. (2001). Antibacterial activity for the essential oil of picea excelsa on Listeria, *Staphylococcus aureus* and colifom bacteria. Food Microbiol. 18: 261 - 268.

6. Cockerill FR. (2006). Clinical, Institute LS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: approved standard: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 29(1): 1-76.

7. Davazdah emamami S. (1382). Herbal medicine, University of Esfahan(iran), Publication of Nsvh.

8. Erturk O. (2006). Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. Section Cell. Mol. Biol, 61 (3): 275 - 280.

9. Lee S, Musa N, Wendy W, Musa N, song CT. (2007). Antimicrobial property of 12 spieces and methanol extract of Oramental sea anmon against Edwarsiella agent and other bacteria. Adv. Biol.Res.; 1 (5 - 6): 164 - 6.

10. Mazutti M., Mossi AJ., Cansian RL., Corazza ML., Dariva C. and Oliveira JV. (2008). Chemical profile and antimicrobial activity of Boldo (peumus boldus Molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. Braz. J. Chem. Eng, 25(2): 427 – 34.

11. Mirheidar H. (1996). Herbal Education. Office of the Islamic culture. Volume 2, 2nd Edition In Farsi.

12. Okmen G., Kardas S., Bayrak D., Arslan A and Cakar H. (2016). The antibacterial activities of *Crocus sativus* against mastitis pathogens and its antioxidant activities. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(3): 146-156.

13. Ordog V., Stirk R., Lenobel M., Bancirova M., Strand J. and Vanstanden, W. (2004). Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites Journal of Applied Phycology.,Vol, 16: 309-314.

14. Ozkan G., Ozcan M., Karahan AG., Sagdic O. (2003). Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. Food Sci. Technol, 9 (5): 353- 358.

15. Parray J., Kamili A., Hamid R., Reshi Z. and Qadri R. (2014). Antibacterial and antioxidant activity of methanol extracts of *Crocus sativus* L. c.v. Kashmirianus. Frontiers in Life Science. Vol. 8, No. 1: 40–46.

16. Pintado C., Miguel A., Acevedo O., Nozal L., Novella J.L. and Rotger R. (2011). Bactericidal effect of saffron (*Crocus sativus* L.) on *Salmonella enterica* during storage. Food Control, 22: 638-642.

17. Razzaghi R., Nourbakhsh R., Hemmati Kakhaki A., and Saberi Najafi M. (1382). Antimicrobial effect of saffron. 3rd national congress on saffron, Iran.

18. Singh B., Bernadette FM and Adams MR. (2001). Synergistic inhibition of Listeria monocytogenes by nisin and garlic exteract. Food Microbiol, 18: 133 - 139.

19. Taskin E., Ozturk E. and Kurt O. (2007). Antibacterial activities of some Marine algaefrom the Aegean Sea(Turkey), African Journal of Biotechnology, Vol, 6(24): 2746-2751.

20. Tayel A., El-Tras W.F. (2009). Possibility of fighting food borne bacteria by Egyptian folk medicinal herbs and spices extracts. J. Egypt Public Health Assoc, 84 (1): 21- 32.

21. Vahidi H., Kamalinejad M .and Sedaghati N. (2002). Antimicrobial Properties of *Crocus sativus* L.Iran. J. Pharm, 1: 33 -35.

22. Zargari A. (1371). Medicinal Plants, Tables Tehran University Press.

Antibacterial activity of stigma and petal of different species of saffron (*Crocus Spp.*)

Afshar Mohammedan M., Kordi Sh. and Mashhadi Nejad A.

Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran

Abstract

According to public concerns about side effects of chemical preservatives tend to use natural products without preservatives has been increased. This study aimed to investigate the antimicrobial extract of saffron stigmas and petals of different species on two types of g^+ bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) and two g^- bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*), causing the infection and the most important food poisoning. In this study, the antibacterial activity of three species of saffron with the scientific names of *Crocus caspius*, *Crocus speciosus* and *Crocus sativus* examined. The extraction of the three species of crocus was performed using methanol acid. The antibacterial activity of the extracts obtained by measuring the diameter of bacterial growth as well as the determination of minimum inhibitory concentration was determined. The results showed that the extract of saffron stigmas and petals of different species, had different antibacterial effects, so that *B. subtilis* and *E. coli* were the most sensitive and resistant bacteria to extract, respectively. Moreover, the petal extract of *C. sativus* and the stigma extract of *C. speciosus* had the most inhibitory effect on the examined microorganisms. Therefore, the stigma and the petals of the saffron in addition to the antioxidant properties can also be used as antibacterial agents.

Key words: saffron, petals, stigma, anti-bacterial activity, inhibitory concentration